

3-ビニルカルバゾール誘導体とトリフルオロチミジンとの光クロスリンクを用いた ^{19}F NMR を用いた核酸類同時検出

(北陸先端大マテリアル) ○篠崎 一世・高嶋 康晴・中村 重孝・藤本 健造

Simultaneous nucleic acids analysis based on ^{19}F NMR using ultrafast DNA

photocrosslinking of 3-cyanovinylcarbazole derivatives to trifluoromethylthymidine (*School of Advanced Science and Technology, Japan Advanced Institute of Science and Technology*)

○Issei Shinozaki, Yasuharu Takashima, Shigetaka Nakamura, Kenzo Fujimoto

In cells, short RNAs that are about 20 nucleotides in length are involved in gene expression regulation and other pathways, and their detection *in vivo* is important for understanding biological events. Currently, nucleic acid detection methods use a fluorescent reagent; however, nuclear magnetic resonance is more useful than fluorescence for reading information stored deep within the human body. In particular, ^{19}F NMR using fluorine as a nuclide can detect signals with high S/N. We have successfully changed the ^{19}F signal derived from $^{\text{TF}}\text{T}$ by 8 ppm, from -63.1 ppm to -72.1 ppm, using photo-cross-linking between 5-trifluoromethylthymidine ($^{\text{TF}}\text{T}$) and 3-cyanovinylcarbazole ($^{\text{CNV}}\text{K}^1$). Furthermore, a large change in its chemical shift can be detected, even in a contaminated system. In this study, we evaluated the change in chemical shift due to photo-cross-linking between the $^{\text{TF}}\text{T}$ and the 3-vinylcarbazole derivative and found that, in addition to the change in chemical shift due to photo-cross-linking, the chemical shift also changed due to the effect of 3-vinylcarbazole derivative substituents. Therefore, simultaneous nucleic acid detection using a hybridization chain reaction (HCR) was demonstrated.

Keywords : ^{19}F -NMR, Detection of RNA, photo-cross-linking

細胞内では 20 mer 程度の短い RNA が遺伝子発現制御などに関与しており、生体内核酸の同時検出は生命現象を理解する上で重要な情報となる。現在、核酸検出は蛍光剤を用いた手法が多いが、生体深部の情報を読み取るためには核磁気共鳴法がより有用である。特に、フッ素を核種とした ^{19}F NMR は高い S/N 比でシグナル検出が可能である。我々はこれまで 5-トリフルオロメチルチミジン ($^{\text{TF}}\text{T}$) と 3-シアノビニルカルバゾール ($^{\text{CNV}}\text{K}^1$) との光架橋反応により $^{\text{TF}}\text{T}$ 由来の ^{19}F シグナルを -63.1 ppm から -72.1 ppm への 8 ppm 変化させることに成功し、夾雑系でも検出可能な大きなケミカルシフトの変化を実現した。本研究では $^{\text{TF}}\text{T}$ と 3-ビニルカルバゾール誘導体との光架橋反応によるケミカルシフトの変化を評価したところ、光架橋によるケミカルシフトの変化に加え、置換基効果によりケミカルシフトも変化することを見出した。そこで、ハイブリダイゼーションチェーンリアクション (HCR) を用いた核酸類同時検出を行った。